

УДК 543.51

УСТРАНЕНИЕ МАТРИЧНЫХ НЕСПЕКТРАЛЬНЫХ ПОМЕХ ПРИ ЭЛЕМЕНТНОМ АНАЛИЗЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ НА КВАДРУПОЛЬНОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРЕ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ

К.Б. Осипов¹, И.Ф. Серегина¹, М.А. Большой^{1, 2}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
химический факультет
Российская Федерация, 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

²Институт спектроскопии Российской академии наук
Российская Федерация, 142190, Троицк, Москва, ул. Физическая, 5
mbolshov@mail.ru

Поступила в редакцию 13 марта 2014 г,
после доработки – 26 мая 2014 г.

На примере определения Mn, Co, Cu, Zn, As, Se, Cd и Pb в цельной крови и моче с использованием квадрупольного масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой Agilent 7500с произведено сравнение двух наиболее часто применяемых способов пробоподготовки биологических жидкостей: прямого разбавления и кислотного разложения. Обнаружено значительное занижение результатов анализа в минерализованных пробах (по сравнению с результатами анализа в разбавленных образцах) для элементов с относительно высоким первым потенциалом ионизации. Показано, что основной причиной такого расхождения является различие проб и градуировочных растворов по матричному составу: высокая кислотность проб после разложения. Дополнительно оценены вклады солевого и органического состава матрицы в занижение получаемых результатов как в разложенных, так и разбавленных пробах. Установлено, что для устранения подобных помех при использовании масс-спектрометра данной комплектации без подбора матрицы градуировочных растворов ключевым является выбор элемента внутреннего стандарта, который осуществляется, исходя из близости его первого потенциала ионизации к соответствующему потенциалу ионизации определяемого элемента. Найден режим работы прибора, который позволяет использовать один любой внутренний стандарт независимо от его природы – атомной массы и/или потенциала ионизации. На основании проведенных исследований предложена схема анализа указанных образцов с использованием квадрупольного масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой, обеспечивающая одновременное определение различных элементов без оптимизации рабочих параметров для каждого аналита. Удовлетворительное совпадение между найденными и аттестованными значениями концентраций всех элементов, определяемых в разбавленных и разложенных образцах сравнения цельной крови и мочи, подтверждает применимость подхода.

Ключевые слова: биологические жидкости, элементный анализ, масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, матричные неспектральные помехи, внутренний стандарт, сравнение способов пробоподготовки.

Осипов Константин Борисович – аспирант третьего года обучения лаборатории спектроскопических методов анализа кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Серегина Ирина Филипповна – к.х.н., доцент кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Большой Михаил Александрович – д.ф.-м.н., профессор, заведующий лабораторией спектроскопических методов анализа кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, заведующий лабораторией аналитической спектроскопии Института спектроскопии РАН, член бюро НСАХ.

1. ВВЕДЕНИЕ

Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) в настоящее время зани-

мает лидирующие позиции в области элементного анализа биологических объектов. Это стало возможным благодаря высокой чувствительности метода, а также возможности проведения многоэ-

лементного анализа в широком диапазоне концентраций. Последнее обстоятельство особенно важно для такого рода образцов ввиду необходимости одновременного определения из одной пробы элементов с низким и высоким содержанием. Кроме того, МС-ИСП практически незаменима при анализе слюны, крови, зубов, волос и биоптатов, так как доступный для изучения объем такого рода материала обычно мал.

Пробоподготовка является наиболее значимой стадией МС-ИСП анализа многих биологических образцов. В настоящее время для этого широко используются два способа пробоподготовки: - прямое (простое) разбавление рекомендуемой смесью реагентов;

- минерализация, наиболее распространенным вариантом которой является кислотное разложение.

Прямое разбавление применяется только в случае биологических жидкостей, таких как моча, сыворотка, плазма и цельная кровь [1-15]. Очевидными преимуществами такого способа являются простота, экспрессность и минимальный риск дополнительного загрязнения пробы. Однако простое разбавление не может быть использовано для перевода в раствор твердых объектов, например тканей, костей и зубов. В этом случае прибегают к их кислотному разложению [15-34].

Цельная кровь представляет собой наиболее сложную по составу биологическую жидкость с высоким содержанием как неорганических, так и органических веществ. Для проведения МС-ИСП анализа в качестве пробоподготовки цельной крови можно использовать простое разбавление, примеров которого в литературе достаточно много [1-9]. При этом обычно цельную кровь напрямую разбавляют в 10, 20, иногда 50 раз с помощью различных смесей водных растворов Triton X-100, 1-бутанола, ЭДТА, аммиака или азотной кислоты. На сегодняшний день нет общепринятого состава разбавителя, и выбор того или иного состава различными авторами обычно никак не обосновывается.

Органическая матрица, которая остается в анализируемом растворе после прямого разбавления, может оказывать негативное влияние на систему ввода проб масс-спектрометра и состояние интерфейса, а также, возможно, изменять степень ионизации тех или иных элементов в плазме за счет реакций переноса заряда с углеродсодержащими ионами. Существует несколько подходов для минимизации влияния органических компонентов матрицы. В работах [1-4] авторы использовали горелки с инжектором большего внутреннего диаметра (2.0 или 2.5 мм по сравнению с обычным 1.5 мм) для уменьшения риска отложения частиц. С той же целью разбавленную цельную кровь подавали в масс-спектрометр в режиме введения малого объема пробы в поток фонового раствора [9]. Согласно рекомендациям производителей МС-ИСП, в основной поток аргона можно вводить и кисло-

род для предотвращения закупорки конусов сажей. Эксперименты, проводившиеся в нашей лаборатории, показывают, что всего 2 %-ная добавка O_2 позволяет избежать образования налета на самплере и скиммере при анализе разбавленных биологических жидкостей.

Кислотное разложение – еще один способ устранения влияния органической матрицы проб биологического происхождения [15-28]. Такой вид пробоподготовки необходим при анализе твердых биологических образцов, а также широко применяется и при анализе биологических жидкостей. Практика нашей работы показала, что у пациентов с тяжелыми воспалительными патологиями отобранные образцы крови характеризуются высокой вязкостью, при этом их разбавление описанными в литературе смесями реагентов становится невозможным ввиду выпадения в осадок органических веществ. У таких пациентов, как правило, и моча содержит большое количество белка и солей органических кислот. Такие пробы также приходится разлагать с использованием кислот-окислителей. Обычно разложение биологических жидкостей осуществляют с помощью концентрированной азотной кислоты и пероксида водорода [17, 18, 22, 25, 27]. Микроволновое излучение часто применяется для интенсификации процесса разложения, при этом в литературе нет общепринятых рекомендаций по температурно-временному режиму разложения.

Спектральные и неспектральные (матричные) помехи в методе МС-ИСП могут привести к неправильным результатам анализа. Влияние неспектральных помех на результаты определения обычно удается нивелировать, применяя градуировку с подбором матрицы градуировочных растворов, внутренние стандарты (ВС) или сразу

Таблица 1

Внутренние стандарты в МС-ИСП анализе цельной крови

Пробоподготовка	Внутренние стандарты	Литература
Прямое разбавление	Sc	[1]
	Tb	[3]
	Rh	[5, 8]
	Ge + Y + Tb	[6]
	Rh + Ir	[2, 4]
Кислотная минерализация	Sc + In	[9]
	Ga + In	[19]
	Ga + Rh	[24]
	Sc + In + Pt	[21]
	Sc + In + Lu	[26]
	In + Lu + Ir	[20]
	Ga + In + Re	[22]
Ge + In + Re	[23]	
Sc + Ge + Rh + Lu	[28]	

оба варианта. Введение внутренних стандартов – наиболее популярный подход, причем для этого применяют различные элементы (табл. 1). Однако ВС, применяемые, например, в случае прямого разбавления цельной крови, отличаются от ВС, используемых при ее кислотной минерализации. При этом причины выбора тех или иных ВС часто неясны: в качестве критериев используются как атомная масса, так и первый потенциал ионизации атомов элемента (ПИ). В связи с этим, как следует из данных, представленных в табл. 1, обычно при измерении проб после кислотной минерализации в качестве ВС используется одновременно несколько элементов. Применение одного единственного внутреннего стандарта в этом случае возможно только с подбором матрицы растворов для градуировки [15, 16, 25] или при анализе разбавленных проб [1, 3, 5, 8].

За последние 10-15 лет накоплен большой опыт анализа биологических образцов методом МС-ИСП. Разработаны общие подходы к борьбе с неспектральными помехами. Вместе с тем, как отмечалось в работе [35], несмотря на понимание в настоящее время общих подходов к устранению матричных эффектов, для каждого типа МС-ИСП приборов и для каждого типа матриц необходимо проводить как оптимизацию процесса пробоподготовки, так и подбор оптимальных режимов работы спектрометра. При этом важной задачей при разработке методик анализа является поиск и нахождение максимально простых методик, позволяющих рутинно анализировать большой поток разнообразных по составу образцов и целевых аналитов, не меняя настройки прибора в процессе анализа.

В связи с вышесказанным, целью данной работы является сравнение способов пробоподго-

товки биологических жидкостей при определении элементов в цельной крови и моче на квадрупольном МС-ИСП, оценка влияния матричных неспектральных помех на результаты анализа, поиск оптимальных условий измерения на квадрупольном масс-спектрометре с индуктивно связанной плазмой Agilent 7500с, не требующих их коррекции при определении разнообразных по физическим свойствам элементов.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Аппаратура

В работе использовали дозаторы разных объемов: 10-100 мкл (Ленпипет, Россия), 100-1000 мкл и 1-5 мл (LabMate, Польша), одноразовые наконечники (VWR, США), полипропиленовые центрифужные пробирки объемом 15 мл (Citotest Labware Manufacturing Co, Китай) и 50 мл (Greiner Bio-One GmbH, Германия). Для определения массы использовали весы Sartorius 1702MP8 (Германия) с точностью взвешивания ± 0.1 мг. Разложение биологических жидкостей осуществляли в микроволновой (МВ) системе Ethos Microwave Labstation (Milestone, Италия).

Измерения проводили на квадрупольном масс-спектрометре с индуктивно связанной плазмой Agilent 7500с (Agilent Technologies, Япония), снабженном распылителем Бабингтона и распылительной камерой Скотта, охлаждаемой элементом Пельтье (2 °С). Для управления прибором и обработки результатов применяли программное обеспечение ICP-MS ChemStation (версия G1834B). Значения параметров настройки масс-спектрометра приведены в табл. 2.

Таблица 2

Параметры настройки масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой Agilent 7500с

Блок спектрометра или операция	Параметры	Настройки
Плазма	мощность генератора	переменная 900-1450 Вт
	скорость потока плазмообразующего газа	15 л/мин
Масс-спектрометр	разрешение	0.7 масс
	вакуум без плазмы	$4 \cdot 10^{-5}$ торр
	вакуум с плазмой	$4 \cdot 10^{-4}$ торр
Подача пробы	скорость потока вспомогательного газа	1.10 л/мин
	скорость потока аргона через распылитель	переменная 0.80-1.20 л/мин
	скорость вращения перистальтического насоса	0.1 оборот/с
Измерение	время измерения на точке	100 мс
	измеряемые изотопы элементов	^{55}Mn , ^{59}Co , ^{65}Cu , ^{66}Zn , ^{68}Zn , ^{75}As , ^{82}Se , ^{111}Cd , ^{112}Cd , ^{114}Cd , ^{206}Pb , ^{208}Pb
	внутренние стандарты	^{103}Rh (^{59}Co , ^9Be , ^{75}As)

2.2. Материалы и реактивы

Пробы биологических жидкостей добровольцев (цельная кровь, отобранная в одноразовые вакуумные пробирки Vacuette (с Li-гепарином); моча, собранная в пробирки Greiner Bio-One) предоставляло Отделение реанимации и интенсивной терапии государственного бюджетного лечебно-профилактического учреждения «Городская клиническая больница № 4» Департамента здравоохранения города Москвы (ОРИТ ГБ ЛПУ ГКБ № 4 ДЗМ). Пробы хранили в холодильной камере при температуре -18°C . Перед проведением анализа их размораживали в течение нескольких часов до комнатной температуры и тщательно перемешивали.

В качестве образцов сравнения в работе использовали «Seronorm Trace Elements Whole Blood» (Level 2, REF 210205, Seronorm, Норвегия) для матрицы цельной крови и «Seronorm Trace Elements Urine» (Level 2, REF 210705, Seronorm, Норвегия) для матрицы мочи.

65 % об. азотную кислоту (Suprapur, Merck, Германия), а также 30 % об. раствор пероксида водорода (Suprapur, Merck, Германия) применяли для МВ разложения биологических образцов. Triton X-100 (осч, Sigma-Aldrich, США), 1-бутанол (чда, Merck, Германия), ЭДТА (чда, Merck, Германия) и гидроксид аммония (чда, Sigma-Aldrich, США) использовали для приготовления растворов-разбавителей цельной крови.

Стандартный раствор 10 мкг/л Li, Co, Y, Se и Ti в 2 % об. азотной кислоте (Agilent Technologies, Germany) применяли для автонастройки параметров масс-спектрометра.

Градуировочные растворы с концентрациями элементов 1, 5, 20, 100, 400 и 1000 мкг/л готовили в 1 % об. HNO_3 из многоэлементного стандартного раствора ICP-MS-68A-A 10 мг/л (High-Purity Standards, США). Для каждого определяемого элемента градуировку проводили в диапазоне референсных концентраций, приведенных на сайте Независимой лаборатории ИНВИТРО (табл. 3) с учетом разбавления (референсные или референтные значения – средние значения конкретного лабораторного показателя, которые были получены при массовом обследовании здорового населения). В качестве внутреннего стандарта применяли родий; концентрацию ВС в анализируемых и градуировочных растворах (25 мкг/л) создавали добавлением необходимого объема 5000 мкг/л одноэлементного раствора, полученного разбавлением исходного 1000 мг/л стандартного раствора (High-Purity Standards, США).

Для исследования матричных спектральных помех использовали одноэлементные растворы 1.3 г/л Na, 0.8 г/л K, 50 мг/л Mg, 100 мг/л Ca, 20 мг/л F, 350 мг/л P, 400 мг/л S, 2 г/л Cl. Концентрации выбранны с учетом максимально возможных содержаний элементов в пробах мочи, разбавленных в 5 раз. Растворы готовили из соответствующих солей (осч, Sigma-Aldrich, США) или стандартных растворов 10 мг/л (High-Purity Standards, США).

Для изучения матричных неспектральных помех готовили модельные растворы с концентрацией определяемых элементов 100 мкг/л и ВС Rh 25 мкг/л в следующих средах:

- а) в 1; 5; 10 (**раствор 1**) и 15 % об. HNO_3 ;
- б) в 0.1; 0.2 и 0.4 % мас. NaCl в 1 % об. HNO_3 ;
- в) в растворе 2.0, 5.5 и 8.7 (**раствор 2**) г/л мочевины в 1 % об. HNO_3 ;
- г) в искусственной моче (по солевому составу) [36], разбавленной в 5 раз 1 % об. HNO_3 (**раствор 3**);
- д) в растворе Рингера, разбавленном в 10 раз 1 % об. HNO_3 (**раствор 4**);
- е) в растворе 8.7 г/л мочевины в 10 % об. HNO_3 (**раствор 1 + 2**);
- ж) в искусственной моче (по солевому составу), разбавленной в 5 раз 10 % об. HNO_3 (**раствор 1 + 3**);
- з) в растворе Рингера, разбавленном в 10 раз 10 % об. HNO_3 (**раствор 1 + 4**);
- и) в растворе 8.7 г/л мочевины в искусственной моче (по солевому составу), разбавленной в 5 раз 1 % об. HNO_3 (**раствор 2 + 3**).

Для этого использовали хлорид, гидрокарбонат, оксалат, цитрат (дигидрат), сульфат, дигидрофосфат (гидрат) и гидрофосфат натрия, хлориды калия, аммония и кальция (дигидрат), сульфат магния (гептагидрат), мочевины (все осч, Sigma-Aldrich, США), а также раствор Рингера состава 8.6 г/л NaCl, 0.3 г/л KCl, 0.25 г/л CaCl_2 (Эском, Россия).

Для приготовления всех растворов использовали получаемую на установке Millipore Simplicity (Millipore, Франция) деионированную воду (18.2 М Ω /см).

2.3. Методики исследования

Приготовление образцов сравнения цельной крови и мочи. Для приготовления образцов сравнения во флакон из солнцезащитного стекла, содержащий спрессованную таблетку лиофилизированной крови или мочи, добавляли 3.00 и 5.00 мл деионированной воды, соответственно. Полученную смесь периодически перемешивали вращающимися движениями без встряхивания в течение 30 минут до полного растворения.

Таблица 3

Референсные содержания элементов в цельной крови и моче, мкг/л

Образец	Mn	Co	Cu	Zn	As	Se	Cd	Pb
Цельная кровь	7-15	0.5-2.5	750-1500	5500-9000	0-10	75-200	~5	0-100
Моча	0.75-3	0.25-2	10-70	200-1000	0-350	15-60	0-1	0-5

Таблица 4

Условия разложения образцов цельной крови и мочи

Образец	Шаг программы	Температура, °С	Время, мин
Цельная кровь	1	20-50	4
	2	50	3
	3	50-150	6
	4	150	3
	5	150-180	2.5
	6	180	2
	7	180-210	2.5
	8	210	7
Моча	1	20-90	5
	2	90-180	4
	3	180	20

Прямое разбавление цельной крови и мочи.

При разбавлении крови к 0.5 мл пробы добавляли 4.5 мл растворителя:

0.1 % об. Triton X-100 – 1 % об. HNO₃ (А), или
 0.1 % об. Triton X-100 – 0.1 мг/л NH₃ (Б), или
 0.1 % об. Triton X-100 – 0.5 % об. 1-бутанол – 1 % об. HNO₃ (В), или
 0.1 % об. Triton X-100 – 0.1 г/л ЭДТА – 0.1 мг/л NH₃ (Г), или
 0.1 % об. Triton X-100 – 0.1 г/л ЭДТА – 0.5 % об. 1-бутанол – 0.1 мг/л NH₃ (Д).

При разбавлении мочи к 1.0 мл пробы добавляли 4 мл 1 % об. HNO₃.

Кислотное микроволновое разложение цельной крови и мочи. Для кислотного разложения биологических жидкостей использовали специальные микровставки для стандартных автоклавов МВ системы Ethos. Образцы цельной крови (0.5 мл каждая проба) разлагали после добавления 1.5 мл концентрированной азотной кислоты и 0.5 мл перекиси водорода согласно температурной программе, представленной в табл. 4. Получаемые после минерализации растворы разбавляли деионированной водой до объема 15 мл.

При разложении мочи в микровставки помещали 1 мл пробы 1.5 мл концентрированной азотной кислоты и 0.5 мл перекиси водорода. В табл. 4 также представлен режим работы МВ печи, используемый в этом случае. Разложенные образцы разбавляли деионированной водой до объема 10 мл.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**3.1. Предварительные эксперименты и наблюдения**

Выбор измеряемых изотопов и оценка роли матричных спектральных помех. На первом этапе исследования выбирали изотопы элементов для определения аналитов, а также оценивали

роль спектральных помех, создаваемых матричными компонентами биологических жидкостей.

Настройку параметров работы масс-спектрометра осуществляли с помощью программы «Autotune» из пакета ChemStation, применяя стандартный раствор 10 мкг/л Li, Co, Y, Ce и Tl в 2 % об. HNO₃. Программа обеспечивает достижение максимальной чувствительности определения элементов при мощности генератора ~1450 Вт и скорости потока аргона через распылитель ~1.20 л/мин. Следует отметить, что в разные дни при выполнении настройки оптимальные мощность генератора и скорость потока аргона в среднем изменялись в пределах 1400-1500 Вт и 1.15-1.20 л/мин соответственно. При этом степени образования двукратно заряженных ионов и оксидов не превышали 2 %. Такой режим работы прибора в дальнейшем будем называть «стандартным». Остальные варьируемые и настраиваемые программой параметры, как будет показано ниже, не влияют на эффективность устранения неспектральных помех.

После настройки прибора исследовали влияние матричных спектральных помех на аналитические сигналы следующих наиболее часто используемых изотопов аналитов: ⁵⁵Mn, ⁵⁹Co, ⁶³Cu, ⁶⁵Cu, ⁶⁶Zn, ⁶⁸Zn, ⁷⁵As, ⁷⁷Se, ⁸²Se, ¹¹¹Cd, ¹¹²Cd, ¹¹⁴Cd, ²⁰⁶Pb и ²⁰⁸Pb. Исходя из матричного состава изучаемых биологических жидкостей с помощью данных работы [37] были определены основные компоненты матрицы биологических жидкостей, которые вероятнее всего вызывают спектральные наложения на эти изотопы. Концентрации компонентов матрицы подбирали согласно максимально возможному их содержанию в разбавленных пробах цельной крови (в 10 раз) и мочи (в 5 раз). Установлено, что нецелесообразно использовать изотопы ⁶³Cu и ⁷⁷Se из-за заметного вклада в их сигналы полиатомных наложений (⁴⁰Ar²³Na⁺ и ⁴⁰Ar³⁷Cl⁺ соответственно). Показано, что в пересчете на концентрацию мышьяка в цельной крови вклад наложения сигнала иона ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺ на сигнал ⁷⁵As составляет примерно 1 мкг/л. Величину этого вклада учитывали при оценке предела обнаружения C_{мин} по элементу. Для остальных исследуемых изотопов соответствующие матричные спектральные помехи незначительны. Таким образом, впоследствии измерения проводили на изотопах ⁵⁵Mn, ⁵⁹Co, ⁶⁵Cu, ⁶⁶Zn, ⁶⁸Zn, ⁷⁵As, ⁸²Se, ¹¹¹Cd, ¹¹²Cd, ¹¹⁴Cd, ²⁰⁶Pb и ²⁰⁸Pb.

Предварительные наблюдения. На следующем этапе работы с использованием проб биологических жидкостей добровольцев проводили сравнение двух распространенных вариантов пробоподготовки при анализе образцов цельной крови и мочи: прямое разбавление и кислотное микроволновое разложение. Измерения осуществляли в «стандартном» режиме. В качестве внутреннего стандарта применяли родий. Градуировочные растворы готовили в 1 % HNO₃, не пытаясь согласо-

Таблица 5

Результаты определения элементов в цельной крови и моче практически здорового добровольца, полученные при использовании «стандартного» режима работы прибора и ВС Rh после различной пробоподготовки ($n = 3$, $P = 0.95$), мкг/л

Образец	Пробоподготовка	Mn	Co	Cu	Zn	As	Se	Cd	Pb
Цельная кровь	разбавление	7.2 ± 0.2	0.9 ± 0.1	950 ± 10	5300 ± 100	9.0 ± 0.3	110 ± 5	<0.05	10 ± 1
	разложение	7.5 ± 0.3	1 ± 0.1	920 ± 20	4100 ± 50	6.7 ± 0.2	60 ± 5	<0.5	9 ± 1
Моча	разбавление	<1	0.65 ± 0.05	15.0 ± 0.5	890 ± 20	11.8 ± 0.5	39 ± 3	<0.1	1.2 ± 0.1
	разложение	<2	0.6 ± 0.1	15.1 ± 0.8	715 ± 20	8.3 ± 0.6	27 ± 2	<0.6	1.0 ± 0.1

вывать матрицу растворов сравнения с матрицей анализируемых образцов.

Установлено, что состав смеси, применяемой для разбавления цельной крови (варианты **А**, **Б**, **В**, **Г** или **Д**), не влияет на результаты определения Mn, Co, Cu, Zn, As, Se, Cd и Pb в образцах крови практически здоровых добровольцев. При этом во всех случаях при смешении образуются гомогенные растворы. В то же время при разбавлении проб крови пациентов с различными воспалительными патологиями или беременных женщин довольно часто происходит осаждение органических веществ. Наименьшая седиментация наблюдается при использовании аммиак-содержащих смесей **Г** и **Д**. Однако в зависимости от состояния исходного образца (даже только что отобранной цельной крови) может наблюдаться значимое занижение результатов определения элементов. За счет выпадения осадка максимальные потери достигают 15-20 % для всех аналитов. Похожее явление характерно и для проб мочи с высокой концентрацией белков и солей. В этих случаях необходимо проводить кислотное разложение цельной крови и мочи.

Как сказано в разд. 2.3 раствор после МВ минерализации цельной крови разбавляли до конечного объема 15 мл, мочи – до 10 мл. Концентрация азотной кислоты при таком разбавлении понижалась до 7-12 % об. Обнаружено, что для Mn, Co, Cu и Pb результаты определения элементов после прямого разбавления и кислотной МВ минерализации цельной крови, а также мочи практически здоровых добровольцев совпадают (табл. 5). Для Zn, As и Se наблюдаются существенные различия. Концентрации, измеренные в растворах после разложения, в среднем на 20-25 % для Zn, 25-30 % для As и 30-45 % для Se ниже, чем в растворах после прямого разбавления. Содержания Mn и Cd в растворах как после разбавления, так и после минерализации мочи и цельной крови и мочи, соответственно, находятся ниже $C_{\text{мин}}$.

3.2. Матричные неспектральные помехи и способы их устранения

Возможной причиной такого существенного расхождения результатов являются матричные неспектральные помехи, характерные для МС-ИСП. Так как общее содержание минеральных солей в

цельной крови не превышает 0.90 % мас. [38], а в моче 1-2 % мас. [36], а анализируемые после разложения растворы включают в себя не более чем 0.03 и 0.1-0.2 % мас. солей, соответственно, на первом этапе исследования можно пренебречь влиянием солевого состава матрицы. Также несущественным должно оказаться влияние органической матрицы разложенных проб в связи с жесткими условиями минерализации и почти полного разрушения органических веществ в них. При этом на первый план выходит влияние кислотности анализируемого раствора (англ. acid effect). Как сказано ранее, остаточное содержание HNO_3 в растворах после минерализации и соответствующего разбавления составляет 7-12 % об., в то время как растворы с 1-2 % об. содержанием азотной кислоты использовали для первичной настройки и градуировки прибора.

Среди причин влияния азотной кислоты на результаты определения можно выделить две основные [39, 40]. Первая из них связана с процессами, которые протекают в распылителе и распылительной камере. Плотность ρ , поверхностное натяжение σ и вязкость η анализируемых растворов определяют эффективность всасывания образца, характеристики первичного и третичного аэрозолей (например, распределение частиц по размеру), а также скорость их транспорта. Эти характеристики незначительно различаются для раствора, не содержащего HNO_3 , и 10 % азотной кислоты и составляют $\rho = 1.000$ и 1.054 г/мл, $\sigma = 72.80$ и 71.65 мН/м, $\eta = 1.000$ и 1.042 , соответственно¹.

Если бы на сигналы влияли плотность, поверхностное натяжение и вязкость растворов, то, вероятно, подобное проявление должно было быть одинаковым для всех элементов независимо от их свойств. В нашем случае это не так. Как сказано в разд. 3.1., результаты определения Mn, Co, Cu, Pb в минерализованных и разбавленных пробах совпадают, тогда как Zn, As и Se определяются с занижением в минерализованных пробах относительно разбавленных.

Вторая причина связана с процессами, происходящими непосредственно в плазме: десольватацией аэрозоля, испарением, атомизацией элементов

¹ – мнение авторов не совпадает с мнением редакции.

Таблица 6

Пределы обнаружения элементов цельной крови после различной пробоподготовки ($n = 10, P = 0.95$), мкг/л

Пробоподготовка	Mn	Co	Cu	Zn	As	Se	Cd	Pb
Разбавление	0.2	0.05	1	2	1	1.5	0.05	0.2
Разложение	1	0.25	5	10	5	7.5	0.25	1

и ионизацией их атомов. При этом следует учитывать потребление энергии плазмы на атомизацию азотной кислоты аэрозоля. Так как полная энергия диссоциации молекулы HNO_3 практически в 2 раза больше, чем молекулы H_2O , можно говорить о некоем снижении температуры плазмы в растворах с повышенным содержанием азотной кислоты². Такое возможное понижение температуры плазмы приводит к падению эффективности ионизации элементов с высоким потенциалом ионизации, что и наблюдается в работе. Расхождение в результатах анализа минерализованных и разбавленных проб наиболее заметно для элементов с относительно высоким ПИ (Zn – 9.39 эВ, As – 9.79 эВ и Se – 9.75 эВ) при использовании в качестве внутреннего стандарта элемента с относительно низким ПИ (Rh – 7.46 эВ). Интенсивность сигнала Rh, также как и интенсивности сигналов элементов с близкими ПИ (Mn, Co, Cu и Pb) снижается в растворе 10 % об. HNO_3 по сравнению с 1 % об. Вероятно, поэтому использование Rh в качестве ВС обеспечивает компенсацию эффекта влияния температуры на аналитические сигналы элементов с ПИ около 7.5 эВ. При этом его применение в качестве ВС для элементов с относительно высоким ПИ неэффективно.

Существует несколько способов устранения влияния кислоты на результаты определений [40]. Наиболее простым из них является подбор матрицы градуировочных растворов, аналогичной по кислотности матрице анализируемых образцов. Применение этого подхода ограничено ввиду неудобства в случае анализа проб различного состава – в каждом конкретном случае необходимо оценить кислотность образца и приготовить градуировочные растворы с тем же содержанием кислоты. Выпаривание растворов после минерализации до сухого остатка и последующее его растворение, также часто используемое для решения этой проблемы, может приводить к дополнительному загрязнению пробы или потере легколетучих элементов. Применимы также различные уровни разбавления по кислотности. Однако это требует приготовления дополнительных серий анализируемых растворов и растворов сравнения, что приводит к увеличению длительности, трудоемкости и стоимости подобных анализов. Помимо этого, при дополнительном разбавлении минерализованных проб биологических жидкостей до приемлемой кислотности можно

определить только Cu и Zn. Концентрации остальных аналитов будут ниже $C_{\text{мин}}$ (табл. 5 и 6).

Иной способ нивелирования влияния кислоты на результаты определений – оптимизация мощности генератора и скорости потока аргона через распылитель при анализе образцов повышенной кислотности, т.е. поиск так называемых «устойчивых» (англ. robust) параметров работы прибора [39] и выбор подходящего внутреннего стандарта [41]. Этот подход является, по нашему мнению, наиболее универсальным и простым для рутинного анализа биологических образцов различного состава, и наши исследования были направлены на поиск именно таких параметров конкретно для прибора Agilent 7500с.

Авторы работ, рассмотренных во введении, склоняются к использованию нескольких внутренних стандартов, часто не объясняя причину выбора того или иного элемента или применяя различные критерии – по атомной массе, по ПИ или сразу по обоим признакам. В связи с этим, в данной работе была исследована взаимосвязь между природой ВС и его способностью устранять влияние кислоты. Изначально подбор ВС осуществляли в «стандартном» режиме работы масс-спектрометра – при мощности генератора 1450 Вт и скорости потока аргона через распылитель 1.20 л/мин. Эксперименты проводили с использованием модельного многоэлементного раствора в 10 % об. азотной кислоте. Рассматривали две группы ВС: с относительно высоким ПИ, но разными атомными массами (Be и As: ПИ ~ 9.5 эВ, 9.0 и 74.9 а.е.м) и относительно низким ПИ, но разными атомными массами (Co и Rh: ПИ ~ 7.5 эВ, 58.9 и 102.9 а.е.м.). Несмотря на то, что As и Co являются определяемыми эле-

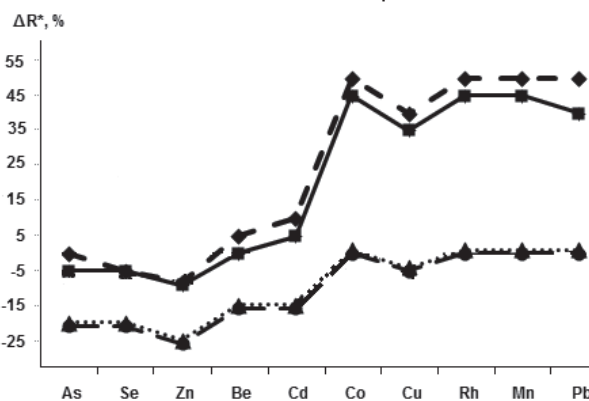


Рис. 1. Значения ΔR^* для разных элементов и ВС в «стандартном» режиме работы прибора (пунктиром указан нулевой уровень ΔR^*). ВС: Be – квадрат, As – ромб, Co – треугольник и Rh – круг

² – мнение авторов не совпадает с мнением редакции.

Таблица 7

Значения первых потенциалов ионизации и атомных масс элементов [42]

Элемент	As	Se	Zn	Be	Cd	Co	Cu	Rh	Mn	Pb
ПИ, эВ	9.79	9.75	9.39	9.32	8.99	7.88	7.73	7.46	7.43	7.42
Атомная масса, а.е.м.	74.9	79.0	65.4	9.0	112.4	58.9	63.5	102.9	54.9	207.2

ментами, их применение в качестве ВС было необходимо исследовать, чтобы обосновать критерии выбора ВС. На рис. 1 показана степень занижения (ΔR^*) относительного сигнала анализов $I(M)/I(BC)$ в 10 % об. азотной кислоте в сравнении с относительным сигналом в 1 % об. растворе для разных элементов при использовании различных ВС. ΔR^* рассчитывали по формуле $\Delta R^* = \{ [I(M) / I(BC)]_{10\%} / [I(M) / I(BC)]_{1\%} - 1 \} \cdot 100 \%$.

Как видно из рисунка, использование Co и Rh позволяет устранить влияние кислоты только в случае элементов с близкими, относительно низкими ПИ, в то время как Be и As успешно работают для элементов с относительно высокими ПИ, при этом атомная масса ВС не влияет на его выбор (табл. 7). Таким образом, установлено, что при работе в «стандартном» режиме только набор ВС с близкими ПИ устраняет влияние кислоты. На следующем этапе была исследована возможность устранения такого влияния путем варьирования параметров работы масс-спектрометра, а также возможность использования одного ВС без подбора матрицы по кислотности.

Поиск «устойчивых» параметров работы масс-спектрометра для анализа образцов с повышенной кислотностью осуществляли, используя тот же многоэлементный модельный раствор в 10 % об. азотной кислоте без применения какого-либо ВС. Следует отметить, что все определяемые элементы можно условно разделить на две группы – элементы с относительно низким ПИ (группа а с ПИ < 9 эВ: Mn, Co, Cu и Pb) и относительно высоким ПИ (группа б с ПИ ≥ 9 эВ: Zn, As, Se и Cd). На рис. 2 представлены зависимости относительного занижения сигналов анализов (R) обеих групп в 10 % об. азотной кислоте в сравнении с 1 % об. ее раствором (величина R) от мощности генератора и скорости потока аргона через распылитель. R рассчитывали по формуле $R = [I(M)_{10\%} / I(M)_{1\%}] \cdot 100 \%$. Так как величины R внутри каждой группы анализов совпадают между собой в пределах погрешности измерения,

столбцы на рисунке отождествляют усредненные по группе значения этой величины. Как видно из диаграмм а и б на рис. 2, варьирование мощности генератора и скорости потока аргона по-разному влияет на величины R в каждой группе. Для анализов с ПИ < 9 эВ подбор этих параметров не приводит к заметному изменению величины R . Она достигает наибольшего значения при мощности 1450 Вт и скорости потока аргона 0.80 л/мин. В то же время для анализов с ПИ ≥ 9 эВ показано, что вклад в устранение влияния кислоты, вносимый правильным выбором мощности генератора, намного меньше, чем вклад, обусловленный выбором подходящей скорости потока аргона через распылитель. Тем не менее, оптимальными мощностями при анализе проб высокой кислотности в этом случае следует считать мощности больше 1100 Вт, что справедливо и для группы а. Главным же фактором в подавлении влияния кислоты является выбор скорости потока аргона через распылитель. При мощности 1450 Вт величина R существенно увеличивается при понижении скорости потока от 1.20 до 1.00 л/мин, дальнейшее же уменьшение скорости до 0.80 л/мин не приводит к ее заметному росту, однако воспроизводимость сигналов практически всех элементов заметно ухудшается со снижением скорости потока – вне зависимости от их принадлежности к той или иной группе (табл. 8). С нашей точки зрения наблюдаемый эффект влияния скорости потока аргона на величину R анализов определяется двумя механизмами. Во-первых, за счет снижения подачи пробы уменьшается нагрузка на плазму и расход энергии на испарение аэрозоля. В результате этого температура плазмы повышается, и степень ионизации элементов с высоким ПИ также растет. Во-вторых, при уменьшении скорости газа через распылитель растет время пребывания пробы в плазме и, возможно, достигается более полная десольватация, испарение и атомизация аэрозоля.

Таблица 8

Зависимость воспроизводимости сигналов определяемых элементов от скорости потока аргона через распылитель ($n = 3, P = 0.95$), %

$v(\text{Ar}), \text{ л/мин}$	Mn	Co	Cu	Zn	As	Se	Cd	Pb
1.20	4	13	2	2	8	10	10	2
1.00	5	15	2	2	10	12	13	3
0.80	10	60	3	3	20	25	55	8

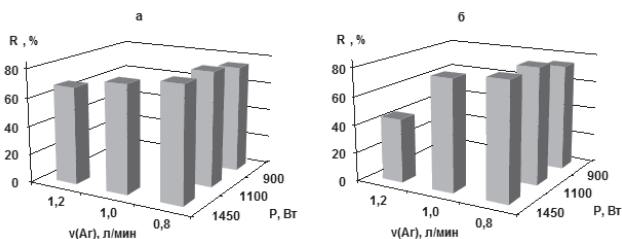


Рис. 2. Значения R для разных мощностей (P) и скоростей потока аргона через распылитель ($v(\text{Ar})$): а – элементы с ПИ < 9 эВ, б – с ПИ ≥ 9 эВ

Таким образом, «устойчивыми» параметрами работы масс-спектрометра Agilent 7500с в рассматриваемой комплектации прибора можно считать мощность генератора больше 1100 Вт, скорость потока аргона через распылитель 1.00 л/мин при сохранении неизменными остальных настроек, подобранных с помощью программы «Autotune». Критерием выбора этих параметров является изменение величины R . При этом следует отметить тот факт, что первоначальная чувствительность определения элементов (установленная в «стандартном» режиме) не изменяется или растет незначительно при уменьшении мощности генератора и существенно падает при понижении скорости потока аргона. Степени образования двукратно заряженных ионов и оксидов не превышают в этих случаях 1 %.

Так как полного устранения влияния кислоты только лишь подбором «устойчивых» параметров достичь не удастся (рис. 2), дальнейшие исследования были направлены на подбор подходящего ВС. На рис. 3 изображены зависимости величины ΔR^* от определяемого элемента при использовании различных ВС в режиме «устойчивых» параметров. Как видно из рисунка, установленный при использовании «стандартного» режима критерий выбора внутреннего стандарта по потенциалу ионизации становится в этом случае не столь строгим. Любой, и что наиболее важно, один-единственный ВС может быть использован в этом случае вне зависимости от его массы и ПИ. При этом подбор матрицы анализируемых и градуировочных растворов по кислотности не нужен. Это заключение лишь частично совпадает с данными литературы. В работах [21, 22, 14, 26], например, набор ВС используется наравне с «устойчивыми» условиями работы прибора, в то время как в работах [15, 16, 25] применение одного-единственного ВС возможно только при подборе матрицы по кислотности.

Экспериментально оценен вклад всех возможных матричных неспектральных помех – помимо кислотного, также солевого и органического состава матрицы – в занижение результатов определения элементов и в минерализованных пробах, и в разбавленных образцах. При этом была проверена применимость разработанного подхода для нивелирования эффектов в этих случаях.

Первоначально были получены зависимости занижения относительного сигнала определяемых элементов групп а и б от кислотного, солевого и органического состава анализируемых растворов. Диапазоны концентраций мешающих компонентов в модельных растворах (разд. 2.2.) были подобраны исходя из условий пробоподготовки биологических жидкостей. Как было сказано ранее, содержание азотной кислоты в разложенных пробах варьируется от 7 до 12 % об., солевой состав меняется от 0.03 % мас. в разложенных образцах цельной крови до 0.4 % мас. в разбавленной моче. Влияние органической матрицы было изуче-

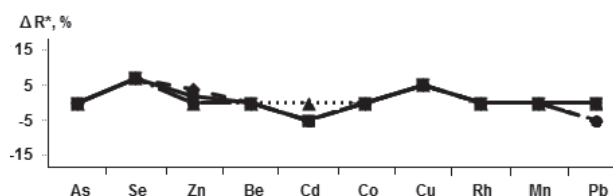


Рис. 3. Значения ΔR^* для разных элементов и ВС в режиме «устойчивых» параметров (пунктиром указан нулевой уровень ΔR^*). ВС: Be – квадрат, As – ромб, Co – треугольник и Rh – круг

но на примере мочевины – основного органического компонента мочи, содержание которого в разбавленных пробах варьируется от 3 до 9 г/л. Из-за сложного состава цельной крови имитировать ее органическую матрицу не представлялось возможным. На рис. 4 представлены зависимости величины R^* от концентраций азотной кислоты, хлорида натрия и мочевины в различных режимах работы прибора. Величину R^* рассчитывали по формуле $R^* = \{ [I(M) / I(BC)]_x / [I(M) / I(BC)]_{1\%} \} \cdot 100 \%$, где $[I(M) / I(BC)]_x$ и $[I(M) / I(BC)]_{1\%}$ – отношение интенсивности сигнала аналита М к интенсивности сигнала ВС в исследуемом растворе и 1 % об. HNO_3 соответственно. Как видно из рисунка, все три рассматриваемых эффекта приводят к более заметному занижению относительного сигнала элементов с высокими ПИ (группа б) при росте концентрации мешающих веществ в «стандартном» режиме работы масс-спектрометра и при использовании Rh в качестве ВС. Причем вклад кислоты и солевого состава сопоставимы, в то время как органическая матрица менее остальных влияет на относительные сигналы этих элементов. Влияние содержания кислоты, солей и органических соединений в измеряемых растворах суммируется. В табл. 9 приведены данные о занижении относительных сигналов элементов в модельных растворах отдельных мешающих компонентов 1, 2, 3, 4 и их смесей, образующихся при использовании описанных выше методик пробоподготовки, 1 + 2, 1 + 3, 1 + 4, 2 + 3 (разд. 2.2.). Солевой состав цельной крови и мочи в данном случае был имитирован растворами Рингера

Таблица 9

Сложение матричных эффектов ($n = 3, P = 0.95$)

Модельный раствор	$-\Delta R^*, \%$			
	Zn	As	Se	Cd
1	25 ± 3	18 ± 2	25 ± 2	13 ± 2
2	14 ± 2	1 ± 1	5 ± 5	10 ± 1
3	19 ± 2	1 ± 1	12 ± 5	14 ± 2
4	15 ± 2	1 ± 1	8 ± 3	9 ± 1
1 + 2	37 ± 3	19 ± 2	25 ± 2	21 ± 1
1 + 3	39 ± 2	19 ± 1	34 ± 3	23 ± 1
1 + 4	37 ± 2	20 ± 2	32 ± 5	21 ± 2
2 + 3	28 ± 3	1 ± 1	3 ± 3	20 ± 1

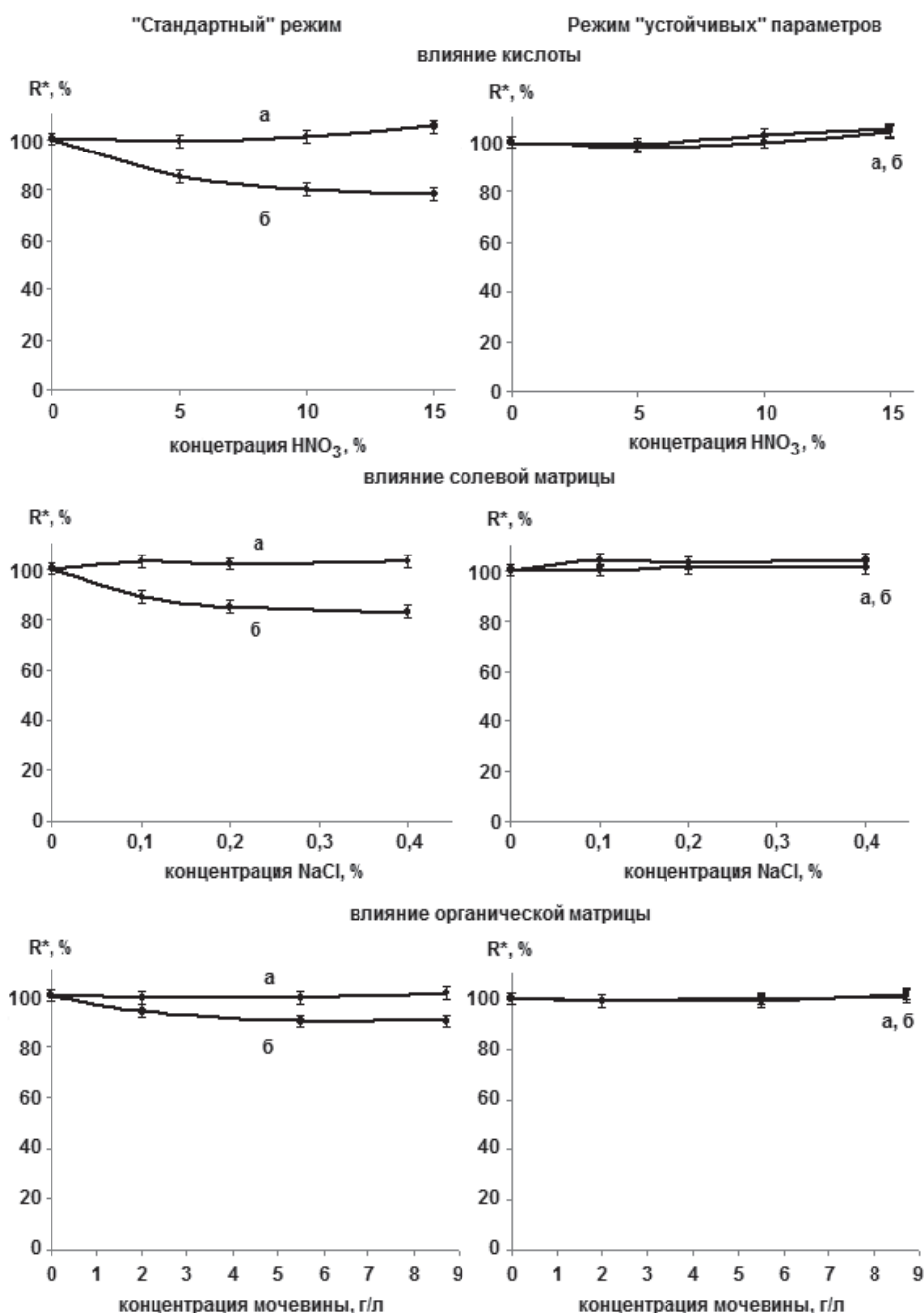


Рис. 4. Зависимости R^* от концентраций азотной кислоты, хлорида натрия и мочевины в различных режимах работы прибора: а – элементы с ПИ < 9 эВ, б – с ПИ \geq 9 эВ

и искусственной мочи, соответственно. Кроме того, было показано, что переход к режиму «устойчивых» параметров работы прибора при этом же внутреннем стандарте позволяет нивелировать влияние компонентов матрицы (рис. 4), что подтверждает применимость разработанного подхода для устранения всех трех эффектов как по отдельности, так и в сумме. Стоит отметить, что вычисление величин ΔR^* , R и R^* во всех рассмотренных случаях производилось после вычитания из интенсивности полезного сигнала интенсивности сигнала контрольного опыта, создаваемого имитируемой матрицей. Это обстоятельство позволяет исключить влияние спектральных интерференций.

3.4. Анализ образцов сравнения цельной крови и мочи

Эффективность разработанной методики анализа подтверждена результатами определения рассматриваемых элементов как в разбавленных, так и в разложенных образцах сравнения цельной крови и мочи. Следует отметить, что приведенные результаты в табл. 10 получены при использовании фиксированных «устойчивых» параметров работы масс-спектрометра (1450 Вт; 1.00 л/мин) и одного ВС Rh. Из таблицы видно, что наблюдается хорошее совпадение между найденными и аттестованными значениями концентраций всех опре-

Таблица 10

Результаты анализа образцов сравнения цельной крови и мочи при различных видах пробоподготовки и использовании режима «устойчивых» параметров и ВС Rh ($n = 3$, $P = 0.95$), мкг/л

Образец	Пробо-подготовка	Mn	Co	Cu	Zn	As	Se	Cd	Pb
Цельная кровь	разбавление	30 ± 1	5.9 ± 0.3	1450 ± 15	6400 ± 200	16 ± 2	120 ± 4	5.5 ± 0.2	330 ± 4
	разложение	26 ± 1	5 ± 1	1480 ± 25	6750 ± 100	16 ± 3	100 ± 26	5.4 ± 0.6	320 ± 15
	аттестовано	30 ± 6	5.8 ± 1.2	1330 ± 270	6500 ± 300	14 ± 3	110 ± 20	5.8 ± 0.2	310 ± 60
Моча	разбавление	11.2 ± 0.5	11 ± 1	23 ± 1	1264 ± 32	185 ± 9	75 ± 11	5 ± 1	89 ± 2
	разложение	11.1 ± 0.4	10.9 ± 0.3	23 ± 1	1260 ± 22	186 ± 12	68 ± 6	5 ± 1	90 ± 3
	аттестовано	10.9 ± 2.2	10.6 ± 2.1	22	1338 ± 269	184 ± 37	70.1 ± 14.1	4.9 ± 0.2	90.7 ± 18.3

деляемых элементов пробы в пределах погрешности измерения.

Предложенный нами подход позволяет из одного раствора независимо от пробоподготовки определять концентрации элементов с различными потенциалами ионизации и массами, концентрации которых варьируются в широких пределах – от единиц до тысяч мкг/л.

4. ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе оценено влияние кислотного, солевого и органического состава матрицы цельной крови и мочи на занижение результатов определения ряда аналитов при анализе с помощью квадрупольного МС-ИСП. Подтверждено, что для устранения влияния кислотного состава пробы при работе прибора в «стандартном» режиме необходим либо подбор кислотности растворов сравнения, либо подбор нескольких внутренних стандартов. Внутренний стандарт должен выбираться исходя из близости его первого потенциала ионизации (а не атомной массы) к потенциалу ионизации определяемого элемента. Разработан более универсальный подход нивелирования рассматриваемых неспектральных помех – одновременное использование «устойчивых» параметров работы прибора (для масс-спектрометра Agilent 7500c описанной конфигурации мощность генератора более 1100 Вт и скорость потока аргона через распылитель 1.0 л/мин) и одного любого внутреннего стандарта независимо от его природы – атомной массы или первого потенциала ионизации. При использовании разработанной методики нет необходимости корректировки параметров прибора и выбора ВС для разных аналитов. Это обстоятельство важно при проведении рутинных анализов большого числа проб на содержание различных по физическим

свойствам аналитов. Применимость подхода подтверждена результатами анализа образцов сравнения цельной крови и мочи.

Авторы выражают благодарность за финансовую поддержку Президиуму РАН (в рамках программы 09 «Создание и совершенствование методов химического анализа и исследования структуры веществ и материалов») и РФФИ (грант № 12-03-00804/12).

ЛИТЕРАТУРА

1. An ORS-ICP-MS method for monitoring trace levels of cobalt and chromium in whole blood samples from hip arthroplasty patients with metal-on-metal prostheses / K.L. Pei [et al.] // Clin. Biochem. 2012. V. 45. P. 806-810.
2. Exploiting dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (DRC-ICP-MS) for sequential determination of trace elements in blood using a dilute-and-shoot procedure / B.L. Batista [et al.] // Anal. Chim. Acta. 2009. V. 639. P. 13-18.
3. Heitland P., Köster H.D. Biomonitoring of 37 trace elements in blood samples from inhabitants of northern Germany by ICP-MS // J. Trace Elem. Med. Bio. 2006. V. 20. P. 253-262.
4. Determination of lead, cadmium and mercury in blood for assessment of environmental exposure: A comparison between inductively coupled plasma-mass spectrometry and atomic absorption spectrometry / Ch.D. Palmer [et al.] // Spectrochim. Acta B. 2006. V. 61. P. 980-990.
5. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair: Reference values / J.-P. Gouille [et al.] // Forensic Sci. Int. 2005. V. 153. P. 39-44.
6. Determination of heavy metals in whole blood by ICP-MS // Agilent Technologies. [Электронный ресурс]: http://icpmslab.mersin.edu.tr/docs/Blood_Analysis.pdf (дата обращения 28.04.2014).
7. Fast method for determination of Cd, Cu, Pb, Se, and Zn in whole blood by DRC-ICP-MS using the simple dilution procedure / C. Tănăsolia [et al.] // Optoelectron. Adv. Mat. 2008. V. 2. P. 99-107.
8. Development of a routine method for the determination of trace metals in whole blood by magnetic sector inductively

- coupled plasma mass spectrometry with particular relevance to patients with total hip and knee arthroplasty / C.P. Case [et al.] // *Clin. Chem.* 2001. V. 47. P. 275-280.
9. Inductively coupled plasma mass spectrometry for direct multi-element analysis of diluted human blood and serum / E. Barany [et al.] // *J. Anal. At. Spectrom.* 1997. V. 12. P. 1005-1009.
 10. Optimization of the trace element determination by ICP-MS in human blood serum / I. De Blas Bravo [et al.] // *J. Trace Elem. Med.* 2007. V. 21. P. 14-17.
 11. Minimizing interferences in the quantitative multielement analysis of trace elements in biological fluids by inductively coupled plasma mass spectrometry / C.-Sh. Hsiung [et al.] // *Clin. Chem.* 1997. V. 43. P. 2303-2311.
 12. Validation of the determination of copper and zinc in blood plasma and urine by ICP MS with cross-flow and direct injection nebulisation / J. Szpunar [et al.] // *Talanta.* 1997. V. 44. P. 1389-1396.
 13. Minnich M.G., Miller D.C., Parsons P.J. Determination of As, Cd, Pb, and Hg in urine using inductively coupled plasma mass spectrometry with the direct injection high efficiency nebulizer // *Spectrochim. Acta. Part B.* 2008. V. 63. P. 389-395.
 14. Heitland P., Köster H.D. Biomonitoring of 30 trace elements in urine of children and adults by ICP-MS // *Clin. Chim. Acta.* 2006. V. 365. P. 310-318.
 15. Biomonitoring of 20 trace elements in blood and urine of occupationally exposed workers by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry / N.B. Ivanenko [et al.] // *Talanta.* 2013. V. 116. P. 764-769.
 16. Determination of 60 elements in whole blood by sector-field inductively coupled plasma mass spectrometry / I. Rodushkin [et al.] // *J. Anal. At. Spectrom.* 2000. V. 15. P. 937-944.
 17. Trace element concentrations in blood of harbor seals (*Phoca vitulina*) from the Wadden Sea / S. Griesel [et al.] // *Sci. Total Environ.* 2008. V. 392. P. 313-323.
 18. Determination of chromium and nickel in human blood by means of inductively coupled plasma mass spectrometry / A. Alimonti [et al.] // *Anal. Chim. Acta.* 1995. V. 306. P. 35-41.
 19. Assessment of reference ranges for blood Cu, Mn, Se and Zn in a selected Italian population / B. Bocca [et al.] // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2011. V. 25. P. 19-26.
 20. Longitudinal monitoring of selected elements in blood of healthy young children / B. Gulson [et al.] // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2008. V. 22. P. 206-214.
 21. Development of methods for the quantification of essential and toxic elements in human biomonitoring / B. Bocca [et al.] // *Ann Ist Super Sanita.* 2005. V. 41. P. 165-170.
 22. Krachler M., Irgolic K. J. The potential of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the simultaneous determination of trace elements in whole blood, plasma and serum // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 1999. V. 13. P. 157-169.
 23. Trace elements in the blood of institutionalized elderly in the Czech Republic / J. Rambouskova [et al.] // *Arch. Gerontol. Geriatr.* 2013. V. 56. P. 389-394.
 24. Simultaneous quantification of 17 trace elements in blood by dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (DRC-ICP-MS) equipped with a high-efficiency sample introduction system / S. D'Illo [et al.] // *Anal. Chim. Acta.* 2006. V. 579. P. 202-208.
 25. Concentration of 17 trace elements in serum and whole blood of plains viscachas (*Lagostomus maximus*) by ICP-MS, their reference ranges, and their relation to cataract / R. Forrer [et al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* 2001. V. 81. P. 47-62.
 26. Rodushkin I., Ödman F., Branth S. Multielement analysis of whole blood by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry // *Fresenius J. Anal. Chem.* 1999. V. 364. P. 338-346.
 27. Evaluation of zinc status in whole blood and scalp hair of female cancer patients / A. Memon [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* 2007. V. 379. P. 66-70.
 28. Stavros H. W., Bonde R. K., Fair P. A. Concentrations of trace elements in blood and skin of Florida manatees // *Mar. Pollut. Bull.* 2008. V. 56. P. 1221-1225.
 29. Multielemental determination in breast cancerous and non-cancerous biopsies by inductively coupled plasma-mass spectrometry following small volume microwave-assisted digestion / J. Millos [et al.] // *Anal. Chim. Acta.* 2008. V. 622. P. 77-84.
 30. Krachler M., Radner H., Irgolic K. J. Microwave digestion methods for the determination of trace elements in brain and liver samples by inductively coupled plasma mass spectrometry // *Fresenius J. Anal. Chem.* 1996. V. 355. P. 120-128.
 31. Concentration and reference interval of trace elements in human hair from students living in Palermo, Sicily (Italy) / G. Dongarra [et al.] // *Environ. Toxicol. Phar.* 2011. V. 32. P. 27-34.
 32. Preparation of hair for measurement of elements by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) / R.F. Puchyr [et al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* 1998. V. 62. P. 167-182.
 33. Multi-elemental characterization of soft biological tissues by inductively coupled plasma-sector field mass spectrometry / E. Engström [et al.] // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 521. P. 123-135.
 34. Trace element profiles in single strands of human hair determined by HR-ICP-MS / K. Gellein [et al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* 2008. V. 123. P. 250-260.
 35. Rodushkin I., Ruth T., Klockare D. Non-spectral interferences caused by a saline water matrix in quadrupole and high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry // *J. Anal. At. Spectrom.* 1998. V. 13. P. 159-166.
 36. Chutipongtanate S., Thongboonkerd V. Systematic comparisons of artificial urine formulas for in vitro cellular study // *Anal. Biochem.* 2010. V. 402. P. 110-112.
 37. May T.W., Wiedmeyer R.H. A table of polyatomic interferences in ICP-MS // *Atomic Spectroscopy.* 1998. V. 19. P. 150-155.
 38. Awad S., Allison S. P., Lobo D. N. The history of 0.9% saline // *Clin. Nutr.* 2008. V. 27. P. 179-188.
 39. Stewart I.I., Olesik J.W. Steady state acid effects in ICP-MS // *J. Anal. At. Spectrom.* 1998. V. 13. P. 1313-1320.
 40. Todoli J.-L., Mermet J.-M. Acid interferences in atomic spectrometry: analyte signal effects and subsequent reduction // *Spectrochim. Acta. Part B.* 1999. V. 54. P. 895-929.
 41. Tangen A., Lund W. A multivariate study of the acid effect and the selection of internal standards for inductively coupled plasma mass spectrometry // *Spectrochim. Acta. Part B.* 1999. V. 54. P. 1831-1838.
 42. Lide D. R., Raton B. CRC handbook of chemistry and physics, 89th edition. UK: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2008. 2736 p.

ELIMINATION OF MATRIX NON-SPECTRAL INTERFERENCES IN ELEMENTAL ANALYSIS OF BIOLOGICAL FLUIDS USING INDUCTIVELY COUPLED PLASMA QUADRUPOLE MASS SPECTROMETER

K.B. Ossipov¹, I. F. Seregina¹, M. A. Bolshov^{1,2}

¹Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry
Leninskiye Gory1-3, GSP-1, Moscow, 119991, Russian Federation

²Institute for Spectroscopy RAS
Fizicheskaya Str. 5, Troitsk, Moscow, 142190, Russian Federation

Simple (direct) dilution and acid mineralization are most frequently used pretreatment techniques of biological fluids prior to elements determination by inductively coupled plasma-mass-spectrometry. The efficiencies of both techniques in terms of analytical results accuracy are compared for the quadrupole mass-spectrometer Agilent 7500c. The measured concentrations of the elements with relatively high ionization potentials (Zn, Cu, Se) in digested blood samples were found 20 – 30 % lower as compared with the same samples after dilution when basic instrumental parameters were used. The key role of acid effect was proven to be the reason of such discrepancy. The influence of saline and organic matrix non-spectral interferences on the observed discrepancy was also investigated. It was found that working in basic instrumental mode (autotune setting) the selection of the internal standard with first ionization potential matching the potential of the analyte is much more efficient than the matching the standard and analyte masses and can eliminate the observed influence of non-spectral interferences without the use of matrix-matched calibration.

Furthermore, the robust QMS instrumental parameters and measurement regimes were found, which enable to use any single internal standard (irrespective of its mass and/or ionization potential). As the result of the investigations, simple technique for element determination in biological fluids by QMS-ICP was developed. It provides the possibility for simultaneous determination of various elements without adjustment of the mass-spectrometer parameters (power, transport gas flow rate, internal standard) to a specific analyte. The reasonable agreement between the found and certified concentration values for all the elements analyzed in the diluted and mineralized samples of whole blood and urine reference materials proved the applicability of the approach.

Keywords: biological fluids, elemental analysis, inductively coupled mass-spectrometry, matrix non-spectral interferences, internal standards, comparison of sample preparation methods.

REFERENCES

1. Pei K.L., Kinniburgh D.W., Butlin L., Faris P., Lee D., Marshall D.A., Oliver M.C., Parker R. An ORS-ICP-MS method for monitoring trace levels of cobalt and chromium in whole blood samples from hip arthroplasty patients with metal-on-metal prostheses. *Clin. Biochem.*, 2012, vol. 45, pp. 806-810.
2. Batista B.L., Rodrigues J.L., Nunes J.A., de Oliveira Souza V.C., Barbosa Jr.F. Exploiting dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (DRC-ICP-MS) for sequential determination of trace elements in blood using a dilute-and-shoot procedure. *Anal. Chim. Acta*, 2009, vol. 639, pp. 13-18.
3. Heitland P., Köster H. D. Biomonitoring of 37 trace elements in blood samples from inhabitants of northern Germany by ICP-MS. *J. Trace Elem. Med. Bio.*, 2006, vol. 20, pp. 253-262.
4. Palmer Ch.D., Lewis Jr. M.E., Geraghty C.M., Barbosa Jr.F., Parsons P.J. Determination of lead, cadmium and mercury in blood for assessment of environmental exposure: A comparison between inductively coupled plasma-mass spectrometry and atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta. Part B*, 2006, vol. 61, pp. 980-990.
5. Gouille J-P., Mahieu L., Castermant J., Neveu N., Bonneau L., Laine G., Bouige D., Lacroix C. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair: Reference values. *Forensic Sci. Int.*, 2005, vol. 153, pp. 39-44.
6. Determination of heavy metals in whole blood by ICP-MS // Agilent Technologies. Available at: http://icpmslab.mersin.edu.tr/docs/Blood_Analysis.pdf.
7. Tănăselia C., Frentiu T., Ursu M., Vlad M., Chintoanu M., Cordos E., David L., Paul M., Gomoiescu D. Fast method for determination of Cd, Cu, Pb, Se, and Zn in whole blood by DRC-ICP-MS using the simple dilution procedure. *Optoelectron. Adv. Mat.*, 2008, vol. 2, pp. 99-107.
8. Case C.P., Ellis L., Turner J.C., Fairman B. Development of a routine method for the determination of trace metals in whole blood by magnetic sector inductively coupled plasma mass spectrometry with particular relevance to patients with total hip and knee arthroplasty. *Clin. Chem.*, 2001, vol. 47, pp. 275-280.
9. Barany E., Bergdahl I.A., Schütz A., Skerfving S., Oscarsson A. Inductively coupled plasma mass spectrometry for direct multi-element analysis of diluted human blood and serum. *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, vol. 12, pp. 1005-1009.
10. De Blas Bravo I., Sanz Castro R., Lopez Riquelme N., Tormo Diaz C., Apraiz Goyenaga D. Optimization of the trace element determination by ICP-MS in human blood serum. *J. Trace Elem. Med.*, 2007, vol. 21, pp. 14-17.
11. Hsiung C-Sh., Andrade J. D., Costa R., Owen Ash K. Minimizing interferences in the quantitative multielement

- analysis of trace elements in biological fluids by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Clin. Chem.*, 1997, vol. 43, pp. 2303-2311.
12. Szpunar J., Bettmer J., Robert M., Chassaigne H., Cammann K., Lobinski R., Donard O.F.X. Validation of the determination of copper and zinc in blood plasma and urine by ICP MS with cross-flow and direct injection. *Talanta*, 1997, vol. 44, pp. 1389-1396.
 13. Minnich M.G., Miller D.C., Parsons P.J. Determination of As, Cd, Pb, and Hg in urine using inductively coupled plasma mass spectrometry with the direct injection high efficiency nebulizer. *Spectrochim. Acta B*, 2008, vol. 63, pp. 389-395.
 14. Heitland P., Köster H.D. Biomonitoring of 30 trace elements in urine of children and adults by ICP-MS. *Clin. Chim. Acta*, 2006, vol. 365, pp. 310-318.
 15. Ivanenko N.B., Ivanenko A.A., Solovyev N.D., Zeimal A.E., Navolotskii D.V., Drobyshev E.J. Biomonitoring of 20 trace elements in blood and urine of occupationally exposed workers by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta*, 2013, vol. 116, pp. 764-769.
 16. Rodushkin I., Ödman F., Olofsson R., Axelsson M. D. Determination of 60 elements in whole blood by sector-field inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 2000, vol. 15, pp. 937-944.
 17. Griesel S., Kakuschke A., Siebert U., Prange A. Trace element concentrations in blood of harbor seals (*Phoca vitulina*) from the Wadden Sea. *Sci. Total Environ.*, 2008, vol. 392, pp. 313-323.
 18. Alimonti A., Petrucci F., Santucci B., Cristaudo A., Caroli S. Determination of chromium and nickel in human blood by means of inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 1995, vol. 306, pp. 35-41.
 19. Bocca B., Madeddu R., Asara Y., Tolu P., Marchal J. A., Forte G. Assessment of reference ranges for blood Cu, Mn, Se and Zn in a selected Italian population. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2011, vol. 25, pp. 19-26.
 20. Gulsona B., Mizon K., Taylor A., Korsch M., Stauber J., Davis J. M., Louie H., Wu M., Antin L. Longitudinal monitoring of selected elements in blood of healthy young children. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2008, vol. 22, pp. 206-214.
 21. Bocca B., Forte G., Petrucci F., Senofonte O., Violante N., Alimonti A. Development of methods for the quantification of essential and toxic elements in human biomonitoring. *Ann Ist Super Sanita*, 2005, vol. 41, pp. 165-170.
 22. Krachler M., Irgolic K. J. The potential of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the simultaneous determination of trace elements in whole blood, plasma and serum. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 1999, vol. 13, pp. 157-169.
 23. Rambouskova J., Krskova A., Slavikova M., Cejchanova M., Wranova K., Prochazka B., Cerna M. Trace elements in the blood of institutionalized elderly in the Czech Republic. *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 2013, vol. 56, pp. 389-394.
 24. D'Illo S., Violante N., Di Gregorio M., Senofonte O., Petrucci F. Simultaneous quantification of 17 trace elements in blood by dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (DRC-ICP-MS) equipped with a high-efficiency sample introduction system. *Anal. Chim. Acta*, 2006, vol. 579, pp. 202-208.
 25. Forrer R., Wenker Ch., Gautschi K., Lutz H. Concentration of 17 trace elements in serum and whole blood of plains viscachas (*Lagostomus maximus*) by ICP-MS, their reference ranges, and their relation to cataract. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2001, vol. 81, pp. 47-62.
 26. Rodushkin I., Ödman F., Branth S. Multielement analysis of whole blood by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1999, vol. 364, pp. 338-346.
 27. Memon A., Kazi T. G., Afridi H. I., Jamali M. K., Arain M. B., Jalbani N., Syed N. Evaluation of zinc status in whole blood and scalp hair of female cancer patients. *Clin. Chim. Acta*, 2007, vol. 379, pp. 66-70.
 28. Stavros H. W., Bonde R. K., Fair P. A. Concentrations of trace elements in blood and skin of Florida manatees. *Mar. Pollut. Bull.*, 2008, vol. 56, pp. 1221-1225.
 29. Millos J., Costas-Rodriguez M., Lavilla I., Bendicho C. Concentration and reference interval of trace elements in human hair from students living in Palermo, Sicily (Italy). *Environ. Toxicol. Phar.*, 2011, vol. 32, pp. 27-34.
 30. Krachler M., Radner H., Irgolic K. J. Microwave digestion methods for the determination of trace elements in brain and liver samples by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1996, vol. 355, pp. 120-128.
 31. Dongarra G., Lombardo M., Tamburo E., Varrica D., Cibella F., Cuttitta G. Concentration and reference interval of trace elements in human hair from students living in Palermo, Sicily (Italy). *Environ. Toxicol. Phar.*, 2011, vol. 32, pp. 27-34.
 32. Puchyr R. F., Bass D. A., Gajewski R., Calvin M., Marquardt W., Urek K., Druyan M. E., Quig D. Preparation of hair for measurement of elements by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Biol. Trace Elem. Res.*, 1998, vol. 62, pp. 167-182.
 33. Engström E., Stenberg A., Senioukh S., Edelbro R., Baxter D. C., Rodushkin I. Multi-elemental characterization of soft biological tissues by inductively coupled plasma-sector field mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 2004, vol. 521, pp. 123-135.
 34. Gellein K., Lierhagen S., Brevik P. S., Teigen M., Kaur P., Singh T., Flaten, T. Syversen T. P. Trace element profiles in single strands of human hair determined by HR-ICP-MS. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2008, vol. 123, pp. 250-260.
 35. Rodushkin I., Ruth T., Klockare D. Non-spectral interferences caused by a saline water matrix in quadrupole and high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, vol. 13, pp. 159-166.
 36. Chutipongtanate S., Thongboonkerd V. Systematic comparisons of artificial urine formulas for in vitro cellular study. *Anal. Biochem.*, 2010, vol. 402, pp. 110-112.
 37. May T.W., Wiedmeyer R.H. A table of polyatomic interferences in ICP-MS. *Atomic Spectroscopy*, 1998, vol. 19, pp. 150-155.
 38. Awad S., Allison S. P., Lobo D. N. The history of 0.9% saline. *Clin. Nutr.*, 2008, vol. 27, pp. 179-188.
 39. Stewart I. I., Olesik J. W. Steady state acid effects in ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, vol. 13, pp. 1313-1320.
 40. Todoli J-L., Mermet J-M. Acid interferences in atomic spectrometry: analyte signal effects and subsequent reduction. *Spectrochim. Acta B*, 1999, vol. 54, pp. 895-929.
 41. Tangen A., Lund W. A multivariate study of the acid effect and the selection of internal standards for inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim. Acta. Part B*, 1999, vol. 54, pp. 1831-1838.
 42. Lide D. R., Raton B. CRC handbook of chemistry and physics, 89th edition. UK, CRC Press, Taylor and Francis Group, 2008. 2736 p.